

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl<sup>6</sup>

A61K 35/84

C12P 1/00



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 96115298.2

[43]公开日 1997年11月19日

[11] 公开号 CN 1165032A

[22]申请日 96.5.10

[71]申请人 中国科学院大连化学物理研究所

地址 116023辽宁省大连市中山路457号

[72]发明人 杜昱光 白雪芳

[74]专利代理机构 中国科学院沈阳专利事务所

代理人 汪惠民

权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 一种灵芝孢子粉的破壁方法

[57]摘要

一种灵芝孢子粉的破壁方法是采用 20~50℃ 温度下用溶壁酶对灵芝孢子进行降解, 酶解液进行冰冻和溶化处理 2~5 次, 再于 20~50℃ 下用超声波进行破碎处理完成破壁过程。破壁过程可重复进行, 使孢子破碎率达 80% 以上。该过程所用的溶壁酶为溶菌酶, 蜗牛酶, 纤维素酶或半纤维素酶中的一种或多种复合酶。这种方法加工灵芝孢子粉, 可充分获得破壁后的不损失活性的灵芝孢子内有效成分, 并且这种方法的制品中不含其它成分或菌体, 可保持灵芝孢子的原有特点。

(BJ)第 1456 号

## 权 利 要 求 书

---

1. 一种灵芝孢子的破壁方法,其特征是采用20~50℃温度下用溶壁酶对灵芝孢子进行降解,酶解液进行冰冻和溶化处理2~5次,再于20~50℃下用超声波进行破碎处理完成破壁过程。

2. 按照权利要求1所述的灵芝孢子的破壁方法,其特征在于破壁过程可重复进行,即经超声波破碎处理后的悬液经离心分离出未破壁孢子,再重复进行第二次冰冻和溶化处理,第二次酶的降解和第二次超声波破碎处理。

3. 按照权利要求1,2所述的灵芝孢子的破壁方法,其特征在于所用的溶壁酶为溶菌酶,蜗牛酶,纤维素酶或半纤维素酶中的一种或多种复合酶。

# 说明书

---

## 一种灵芝孢子粉的破壁方法

本发明提供一种加工灵芝孢子粉的方法，具体地说是采用生化和物理技术使灵芝孢子的孢子壁破碎的工艺方法。

灵芝孢子粉以其高含量的有效活性成分，近年来引起了人们的重视，并不断地开发出新产品。但由于其具有较坚硬的孢子壁，一般方法难以破壁，其内部有效成分不能充分释放利用，使多数灵芝孢经肠道后不被吸收而造成浪费。目前常用以下几种方法进行处理：①干燥法，使细胞膜由于脱水破裂，遇水后造成胞内成分外溢，但效率较低。②化学法，由于酸或碱可降解多糖、水解蛋白，改变其有效组分，因而此方法使用较少。③热水提法，只能将部分可溶性成分提出，结合酶解作效果可提高，但一些非溶于水的活性物质难以利用。④物理粉碎法，常用球磨机或超声波处理，而目前的粉碎力度及破碎率有限。与本发明的技术相近，也有报导采用沸煮，酶解加酵母法加工灵芝孢子粉的方法，其先将孢子沸煮，降至60℃，酶液水解后，接种酵母菌发酵，再沸煮，冷却后制成。但孢子经先后多次沸煮，其有效成分易失活。同时，采用这种技术同样只能得到部分水溶性有效成分，并由于介入酵母菌，一些有效成分会被代谢利用，产物复杂化。

本发明的目的是提供一种采用生化和物理技术加工灵芝孢子的方法。利用这种方法可在不破坏灵芝孢子固有的有效成分基础上，使灵芝孢子的孢子壁破碎，可充分地使灵芝孢子的内部有效成分被释放，进而提高灵芝孢子制品的营养价值。

本发明的灵芝孢子粉的破壁方法为不破坏灵芝孢子的有

效成分，采用低温条件下进行加工，先利用生化技术，以酶液降解由多糖肽形成的灵芝孢子壁并使其坚硬的孢子壁产生松动，再用物理方法，反复冰冻溶化酶解后的灵芝孢子造成细胞膜破坏，质壁分离，并采用超声波技术进行破碎处理，可得到不损失活性的灵芝孢子活性成分，具体地说本发明的方法是将灵芝孢子粉经低温下酶解，反复冰冻溶化，低温下超声波破碎处理，完成灵芝孢子壁的破碎，破壁后的灵芝孢子粉可用来进一步加工制成含效灵芝孢子的制品。

上述方法中，低温条件为 $20\sim 50^{\circ}\text{C}$ ，酶解选用溶壁酶，其酶含量为酶液的 $1\sim 8\%$ 。酶解过程不应少于1小时，以利于酶解反应充分进行，一般为 $1\sim 10$ 小时。为提高酶解效果，可采用复合酶进行酶解反应，如选用溶菌酶，蜗牛酶，纤维素酶或半纤维素酶中的两种或多种构成。反复冰冻溶化过程是将经酶解处理后的液体转入冻箱中，温度逐渐降至 $-20^{\circ}\text{C}$ ，随之再逐渐溶化，反复进行 $2\sim 5$ 次。超声波破碎可按常规技术，用高强超声波处理 $1\sim 10$ 分钟。本发明的上述方法，可以重述进行，即经超声波破碎后进行离心分离，将未破壁的孢子重复上述过程，一般经两次处理，孢子的破碎率可达到 $80\%$ 以上，收集滤液与破碎孢子，可用来进一步制备含灵芝孢子的各种制品。例如，可将破碎后的孢子悬液进行真空干燥可制得高效灵芝孢子粉，也可直接将悬液配制成各种含灵芝孢子的食品，饮料和其它保健用品。

下面通过实例对本发明的技术给予进一步地说明。

#### 实例1

取2克长白山灵芝孢子粉，温水搅拌浸泡24小时，配制 $0.6\text{M MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  200ml 溶壁酶液（溶菌酶 $1\%$ 、蜗牛酶 $1.5\%$ 、纤维素酶 $1\%$ 、半纤维素酶 $1\%$ ），将孢子离心收集后移入酶液100ml， $40^{\circ}\text{C}$ 振荡反应5小时后，转入冰箱温度逐渐降至 $-20^{\circ}\text{C}$ ，

随后逐渐溶化，反复三次，经超声波低温破碎5分（强度90%），取出后离心将未破壁孢子重复上述过程，孢子破碎率达80%以上，收集滤液与破碎孢子，真空干燥，制成高效灵芝孢子干粉。

由上实例，按本发明技术加工灵芝孢子粉，可以充分获得破壁后的不损失活性的灵芝孢子有效成分，并且这种方法的制品中不含其它（除酶外）成分或菌体，保持了灵芝孢子原有的特点。